

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

Année 1929

N° 3

THÈSE
POUR
LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE
(DIPLOME D'ÉTAT)

Soutenue devant la Faculté de Médecine de Paris en 1929

Par Jean Edmond Henri RIOU

Né à Paris, le 28 Février 1905

Coagulation du Sang chez le Chien
Action des extraits hypophysaires

JURY { *Président :* M. F. RATHERY, Professeur à la Faculté de Médecine.
 { *Assesseurs :* M. MAIGNON { Professeurs à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort.
 M. NICOLAS }

PONTORSON

IMPRIMERIE G. GRÉGOIRE

—
1928

THÈSE

POUR

LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

Année 1929

N° 2

THÈSE
POUR
LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE
(DIPLOME D'ÉTAT)

Soutenue devant la Faculté de Médecine de Paris en 1929

Par Jean Edmond Henri RIOU

Né à Paris, le 28 Février 1905

Coagulation du Sang chez le Chien
Action des extraits hypophysaires

JURY { *Président* : M. F. RATHERY, Professeur à la Faculté de Médecine.
 { *Assesseurs* { M. MAIGNON } Professeurs à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort.
 { M. NICOLAS }

PONTORSON
IMPRIMERIE G. GRÉGOIRE

1928

PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'ÉCOLE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

Directeurs honoraires : MM. P.-J. CADIOT et H. VALLÉE

Directeur : M. E. NICOLAS

Professeurs honoraires : MM. G. BARRIER, Inspecteur général honoraire des Ecoles Vétérinaires, P.-J. CADIOT, A. RAILLIET, H. VALLÉE.

PROFESSEURS ET CHARGÉS DE COURS

	MM.
Anatomie descriptive des animaux domestiques.....	BRESSOU.
Physiologie, thérapeutique générale.....	MAIGNON.
Physique et Chimie médicales, toxicologie, pharmacie..	NICOLAS.
Parasitologie et maladies parasitaires, clinique; Zoologie.	HENRY.
Pathologie médicale des équidés et des carnassiers, clinique; sémiologie et propédeutique, jurisprudence.	ROBIN.
Pathologie chirurgicale des équidés et des carnassiers, clinique; anatomie chirurgicale, médecine opératoire et ferrure.....	COQUOT.
Pathologie bovine, ovine, caprine, porcine et aviaire, clinique; médecine opératoire, obstétrique.....	MOUSSU.
Pathologie générale et microbiologie, maladies microbiennes et police sanitaire, clinique.....	PANISSET.
Histologie et embryologie, anatomie pathologique; autopsies. . .	PETIT.
Zootecnie et économie rurale.....	DECHAMBRE.
Agronomie, botanique et hygiène; matière médicale...	{ DECHAMBRE. HENRY.
Industrie et contrôle des produits d'origine animale...	VERGE.



AGRÉGÉS

MM. LESBOUYRIES, VERGE.

CHEFS DE TRAVAUX

MM. DELMER.

MM. MONVOISIN.

LESBOUYRIES.

MOUSSU (R.).

M. VERGE.

La Faculté de Médecine et l'Ecole Vétérinaire déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation, ni improbation.

A MA MÈRE, A MON PÈRE

Qui ont consenti pour moi tant de sacrifices, ce faible témoignage de ma reconnaissance et de ma profonde affection.

A MES TANTES

Qui m'ont élevé, et dont les bontés pour moi furent sans bornes, en gage de mon éternelle gratitude et de mon affection.

A MA SŒUR

A MA FIANCÉE

A TOUS MES PARENTS, A MES AMIS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR RATHERY

Professeur à la Faculté de Médecine de Paris

Nous le remercions du grand honneur qu'il nous a fait en acceptant la présidence de cette thèse.

A MONSIEUR E. NICOLAS

Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

*Hommage de nos remerciements
et de notre respectueuse sym-
thie.*

A MONSIEUR MEIGNON

Professeur de Physiologie et de Thérapeutique
à l'Ecole Vétérinaire d'Alfort

*Nous le remercions de l'hon-
neur qu'il nous a fait en accep-
tant de faire partie de notre jury.*

A MONSIEUR SIMONET

Docteur ès-sciences, Directeur du Laboratoire de Physiologie
aux Etablissements Byla

*A qui nous devons l'idée de ce
travail, nous adressons nos vifs
remerciements pour l'amabilité
avec laquelle il a mis à notre dis-
position son laboratoire et les res-
sources de sa vaste érudition.*

A TOUS MES MAITRES
DE L'ECOLE VETERINAIRE D'ALFORT

Coagulation du Sang chez le Chien

ACTION DES EXTRAITS HYPOPHYSAIRES

INTRODUCTION

Le sang circulant dans les vaisseaux est un tissu vivant dont on a dit qu'il constituait un véritable milieu intérieur. Purificateur de l'organisme, c'est à lui qu'incombe la tâche de libérer les tissus qu'il nourrit de toutes les impuretés qu'y accumulent sans cesse les phénomènes vitaux. On comprendra donc sans peine qu'il puisse être secondairement altéré par les lésions des organes qu'il irrigue. Mais il a aussi ses affections propres comme tous les autres tissus.

Déjà dans l'antiquité on attachait une grande importance à l'examen du sang à sa sortie des vaisseaux. Son aspect variable et les différentes modifications que les moyens précaires de la médecine ancienne permettaient de déceler, avaient une importance prépondérante dans l'édification des théories pathogéniques. Depuis fort longtemps, ces lointains ancêtres de la médecine attachaient une grande importance au phénomène de la coagulation spontanée qui est en effet le processus physique le plus remarquable que présente le sang. « Mais, malgré toute l'attention qu'ils prêtaient à la coagulation,

ce phénomène restait pour eux étrange et en quelque sorte impénétrable » (Hayem). Aujourd'hui les recherches biologiques tendent de plus en plus vers l'étude des modifications physiques et chimiques des humeurs par lesquelles on cherche à expliquer les faits pathologiques.

Les auteurs vétérinaires signalent de nombreux cas où, en dehors des variations propres à chaque espèce animale, on observe des altérations manifestes de la coagulation.

Doyon a décelé dans divers organes une substance sans doute identique à l'antithrombine et qui aurait une action anticoagulante. Mais l'action inhibitrice de ces substances est masquée à l'état normal par d'autres dont le but est de favoriser la coagulation. Un équilibre constant et dont nous ignorons les formes est établi dans l'organisme entre ces forces opposées. Nous pouvons supposer que chaque organe secrète pour sa part des substances actives et retardantes qui se contrebalancent pour maintenir la fluidité du sang. Mais si celui-ci pour une raison quelconque sort du milieu intérieur l'équilibre se trouve rompu et la coagulation s'ensuit. Mais ces faits permettent de supposer que parallèlement des troubles profonds pourront être amenés dans le phénomène par l'excès ou la prédominance de l'une ou l'autre des forces agissantes. Et ne pourrait-on pas, en introduisant dans le courant sanguin des extraits d'organes, aux propriétés prépondérantes supposées actives ou retardantes, modifier à volonté la marche de la coagulation ? C'est le problème que se sont proposés de nombreux auteurs qui expérimentèrent avec des extraits hypophysaires. Toutes leurs expériences ont eu uniquement pour but de rechercher les variations que subissaient la vitesse et le temps de coagulation. Les résultats obtenus ne concordent en aucun sens. Mais on peut objecter à cela que ces méthodes ne permettent de saisir que des variations très importantes, tandis que des modifications réelles mais infimes

passent inaperçues avec les moyens couramment employés. Il est pourtant une méthode très sensible qui permet de saisir ces phénomènes fugaces et difficilement perceptibles, c'est la technique indiquée par Marcel Bloch pour l'examen de la force de coagulation. Nous inspirant de ces recherches au cours de nos modestes travaux, nous nous sommes d'abord appliqué à rechercher une méthode satisfaisante pour mesurer les variations de la vitesse de coagulation du sang normal. La méthode des tubes de Hayem que nous avons choisie nous a également servi à mesurer les variations survenues à la suite d'injections d'extrait hypophysaire. Ensuite nous avons étudié par la méthode de Marcel Bloch la force de coagulation chez le chien normal avant et après injection d'hypophysine.

Mais qu'il nous soit permis, avant de rendre compte de ces modestes travaux, d'exposer quelques données sur le problème si complexe de la coagulation du sang, et de rappeler les travaux des savants qui s'attachèrent à l'étude de l'action sur ce phénomène des extraits hypophysaires.

Causes et résultats de la coagulation

Parmi les multiples problèmes que cette question si importante de la coagulation a soulevés, ce point spécial des causes du phénomène est peut-être celui qui, à travers les âges, a reçu le plus grand nombre de solutions. Hippocrate pensait que la cause primordiale était la variation de température, le froid que le sang subissait au sortir des vaisseaux. Or les travaux de Hewson (1771), Sendamore, Hunter, etc., ont prouvé que le froid n'avait aucune action spéciale, pas plus d'ailleurs que le contact de l'air. Dans le vide le sang coagule, bien que plus lentement que dans les conditions ordinaires, et on sait qu'à zéro degré le sang des mammifères reste fluide pendant des heures. Loin d'accélérer la séparation de la fibrine, le froid et le repos ont une action retardatrice sur sa formation. Ruysch en 1707 montra que du sang qu'on agite coagule plus vite que du sang au repos.

Longtemps on a cru que les parois des vaisseaux exerçaient une action anticoagulante, et que le sang extravasé, ne subissant plus cette influence, coagulait spontanément. C'est l'opinion que soutenaient Hewson et Brücke (1857). Mais on a démontré depuis que certaines parois non mouillables étaient capables d'exercer la même influence que l'endothelium vasculaire. Freund (1883) a conservé du sang à l'état fluide pendant plusieurs heures dans des récipients enduits de vaseline. Lillienfeld (1892) employait dans ses expériences des vases intérieurement enduits de paraffine et obtenait des résultats identiques. On ne peut donc accorder une part active aux endotheliums vasculaires, mais strictement une simple neutralité.

On admet aujourd'hui que le sang venu hors des vaisseaux trouve dans le milieu extérieur de nombreux facteurs qui créent des éléments favorables à la coagulation, bien que n'apportant aucun élément essentiel que ce sang ne contienne déjà. On les a désignés sous le nom de substances thromboplastiques, et dans ce groupe peuvent trouver place les poudres inertes offrant au sang une très grande surface de contact, les parois extérieures mouillables, les colloïdes ou ions, toutes substances que nous retrouverons plus loin. En effet la physicochimie des colloïdes a démontré depuis longtemps l'action précipitante, coagulante des ions, des colloïdes dissous, des poudres et des parois.

Ces substances thromboplastiques provoqueraient la précipitation des trois colloïdes du plasma sous forme de fibrine. La coagulation serait le résultat d'une action diastasique du fibrin ferment ou plasmase sur le fibrinogène. Cette diastase provient de l'action des sels de calcium contenus dans le sang sur une substance, la proplasmase, qui a pour source les leucocytes soustraits aux conditions normales et naturelles de leur existence (Schmidt).

Après la coagulation, le caillot laisse exsuder le sérum dont la composition diffère de celle du plasma. Ce dernier contient du fibrinogène en dissolution. Au moment de la coagulation ceux-ci mettent en liberté certaines substances qui est l'élément solide du caillot et que par conséquent le sérum ne contient pas. De plus, le plasma circulant entraîne avec lui les éléments figurés du sang. Pendant la coagulation le fibrinogène se transforme en fibrine stances qui se dissolvent dans le sérum et que par suite le plasma ne contient pas.

Par conséquent le résultat sera le caillot, constitué par la fibrine contenant dans ses mailles les éléments figurés du sang. Or, on sait que la fibrine peut se constituer dans le plasma en dehors des globules rouges. Ce plasma

contient une substance précipitable par le chlorure de sodium. Reprise en solution dans l'eau elle coagule spontanément au bout d'un certain temps, c'est le fibrinogène. La transformation de ce fibrinogène en fibrine se fait sous l'action du fibrin ferment ou thrombine, qui n'existe dans le sang circulant que sous la forme de thrombogène inactif. Par conséquent de la transformation de la prothrombine en thrombine résulte consécutivement la mutation du fibrinogène en fibrine et la coagulation du sang.

Pour Arthus, le fibrin ferment dériverait de la couche des globules blancs en dehors des vaisseaux. En agissant sur le fibrinogène du plasma sanguin en présence des sels calciques solubles de ce plasma, elle lui ferait subir un dédoublement en deux substances dont l'une, la globuline est coagulable à 64° et se trouve dans le sérum, et dont l'autre se précipite sous forme de substance organocalcique, la fibrine.

Pekelbarring croit que le ferment de la fibrine est une combinaison calcique de nucléine qui se formerait au moment de la coagulation. Le sel de calcium préexisterait dans le plasma, la nucléine proviendrait des globules blancs et sortirait par l'influence des corps étrangers sous forme de nucléoprotéide.

On peut alors juger de toute la complexité du phénomène par la multiplicité des interprétations qui en ont été données. Et la lice reste ouverte aux chercheurs, à qui trouvera l'explication satisfaisant tous les esprits, si toutefois un tel résultat est possible en biologie...

Mécanisme de la coagulation

On trouve dans le plasma sanguin tous les constituants de la fibrine, la formation de celle-ci aux dépens de ces éléments détermine le phénomène de la coagulation. On peut même déterminer la coagulation de certains plasmas non coagulables spontanément par addition de sérum sanguin. En effet, ce sérum contient le fibrin ferment ou thrombine capable de transformer en fibrine les substances fibrinogènes que contiennent ces plasmas tels que le liquide d'ascite.

Le fibrinogène, corps albuminoïde en dissolution dans le sang, est transformé sous l'action d'une influence diastasique en une substance précipitable. On tend à admettre que la substance coagulante, la diastase, proviendrait des éléments figurés du sang. En effet si on prend du liquide d'hydrocèle spontanément incoagulable, et qu'on y ajoute des globules blancs ou des globules du pus, on détermine une coagulation très forte de ce liquide. En 1890, Arthus et Pagès montrèrent l'action favorisante des sels de chaux sur la coagulation, pour eux la fibrine était une combinaison calcique puisque ses cendres contiennent toujours du calcium. Mais en réalité on verra que les sels de calcium ne sont que des adjuvants, ils ne sont pas indispensables pour la transformation du fibrinogène en fibrine. Plus tard, les travaux de Pekelharin, Delezenne, Hammarsten, Morawitz, Fuld et Spiro tendaient à considérer la production de fibrin ferment comme due à la fusion des sels de chaux avec une thrombokinasé d'origine cellulaire et dont la composition chimique était celle des nucléoprotéides. Des substances thrombogènes contenues dans le plasma s'uniraient à ces corps pour donner la thrombine. Le fibrin ferment serait donc, en résumé, issu de l'union de trois substances :

1° Substances cellulaires, thrombokinasés ou cytozyme,

2° Substances plasmatiques, thrombogène, serozyme ou plasmazyme,

3° Sels calcaires.

L'origine du fibrinogène est aussi une question très controversée. Pour certains elle résulterait de la destruction des éléments figurés du sang placés dans des conditions différentes de celles de leur existence naturelle. Mais d'autres admettent qu'elle préexiste dans le plasma ! On considère le foie, la moelle osseuse, le tissu lymphoïde en général comme les centres producteurs les plus importants du fibrinogène. On constate en effet que ce fibrinogène disparaît du sang dans l'intoxication phosphorée mortelle où le foie est gravement atteint. On avait d'abord considéré la formation de fibrine et de fibrin ferment comme des combinaisons calciques de corps albuminoïdes. Mais aujourd'hui on compare la formation de la fibrine à la précipitation des colloïdes. Les substances albuminoïdes de la fibrine sont des complexes, entités chimiques mal définies, groupements très instables de molécules qui sont à l'état d'extrême division dans le plasma. Ces complexes ne répondent pas aux lois ordinaires des combinaisons chimiques, leurs particules peuvent s'agglutiner, précipiter sous l'influence des causes les plus diverses, en particulier par la présence d'ions libres faisant avec eux des complexes d'absorption. En un mot la formation de la fibrine aux dépens du fibrinogène reviendrait à l'action réciproque de plusieurs colloïdes les uns sur les autres, amenant un nouveau groupement moléculaire du complexe en présence d'ions Ca. On comprendra alors facilement combien le phénomène est multiple et combien peuvent être nombreuses et variées les causes qui entrent en jeu pour favoriser ou au contraire retarder ses manifestations. Il est à remarquer que la thrombine ne se fait qu'en présence de calcium. Mais une fois formée elle provoque la coagulation du fibrinogène même en l'absence de sels de calcium ionisés.

Actions favorisantes et empêchantes

A. — **PHYSIQUES.** — Brodie et Russel ont vérifié l'influence considérable de la température sur la coagulation normale. Celle-ci se fait à 20° en 7 à 8 minutes environ, tandis qu'elle est considérablement avancée par la chaleur et à 30° la coagulation complète est obtenue en 3 à 4 minutes.

B. — **CHIMIQUES.** — On a vu quelle était l'importance des sels de calcium. Il faut les citer en premier lieu dans ce chapitre des actions favorisantes. Et encore le terme n'est-il pas exact, le calcium n'est pas seulement l'agent favorable au bon fonctionnement du mécanisme coagulateur, il est le facteur indispensable intervenant dans la production de la plasmase. Par conséquent, sans calcium il n'est pas de coagulation possible. D'ailleurs la plupart des sels des métaux alcalinoterreux ont montré une action nettement favorisante, que ce soient des sels de calcium, strontium ou de magnésium, etc. Wright, en 1891, a montré que l'administration per os des sels de chaux augmentait la coagulabilité du sang.

Le sang est rendu incoagulable par l'addition d'une certaine quantité de citrate de soude. Et pour Pchelbaring ce sang ainsi citraté avait désormais perdu « indéfiniment » ses propriétés de coaguler. En réalité, si on abandonne ce sang dans le tube qui a servi à l'expérience on constate qu'il coagule tout au moins partiellement, en un temps variable, 2 à 3 jours habituellement.

Et on peut croire que les conditions extérieures exercent une action telle, qu'elles rendent au calcium inactivé l'état physique sous lequel il peut déclencher la coagulation. En effet le calcium n'est pas précipité à l'état de précipité insoluble par l'addition de citrate de

soude. Le citrate trisodique $C^6 H^5 O^7 Na^3 + 5 \frac{1}{2} H^2O$ mélangé au sang dans la proportion de 2 à 3 % ne fait que masquer les propriétés du calcium sanguin (Spiller). Si par un moyen efficace on peut éliminer le citrate que l'on avait ajouté, le calcium remis en liberté agit de nouveau et la coagulation reprend son cours. On peut encore dans le tube contenant le sang citraté ajouter sans précautions une quantité considérable et indéterminée de calcium, on constate une coagulation brusque. Mais si on ajoute le calcium neuf très lentement, à un moment donné une trace de calcium ajoutée agira sur une partie du mélange citraté et un début de coagulation se produira. C'est ce que nous verrons Marcel Bloch appeler le « seuil de coagulation ». Si on continue à ajouter du calcium, les ions Ca augmentant dans le mélange agissent sur des quantités de plus en plus considérables de sang citraté et pour une quantité bien déterminée de calcium toutes les substances coagulantes seront mobilisées et on sera parvenu au stade de coagulation complète.

Causes Biologiques

ACTION DES ÉLÉMENTS FIGURÉS DU SANG

Schmidt avait cru trouver dans les leucocytes la source du fibrin ferment. Mais on a démontré depuis que la coagulation terminée, les globules blancs n'étaient pas détruits, ce qui rendait peu probable l'hypothèse de Schmidt. Le dépôt qu'on croyait être la source du fibrin ferment contient des leucocytes et des globulins plus légers et plus superficiels et qu'on peut séparer par centrifugation. On a expérimenté leur action sur du liquide d'hydrocèle qui est spontanément incoagulable. On a constaté qu'ils étaient beaucoup plus actifs que les globules blancs. Aussi tend-on à admettre aujourd'hui l'influence prépondérante des globulins dans la formation de la thrombine. Pourtant la lymphe qui ne contient pas de plaquettes coagule aussi. Par conséquent le cytozyme a sans doute une autre source. On a tendance à admettre que le premier temps du phénomène est sous la dépendance du suc des tissus, tandis que le deuxième temps serait influencé par les globulins. Ceux-ci par leur nombre et leur petite taille offrent à la fibrine une surface considérable qui favorise sa précipitation.

Certains auteurs ont vu dans le tissu lymphoïde en général et plus particulièrement dans la moelle osseuse une source de thrombine et de fibrinogène provenant des mégakaryocytes.

LES EXTRAITS DE TISSUS FRAIS

Ces substances favorisent au plus haut degré la coagulation, que ce soient des extraits de cellules végétales ou animales. Schmidt a désigné sous le nom de substances

synoplastiques, des substances comprenant l'ensemble des produits contenus dans l'extract alcoolique de tout protoplasma, en particulier la lécithine qui a une action coagulante très importante.

Delezenne étudiant la coagulation du sang chez les oiseaux a constaté que du sang recueilli directement dans les vaisseaux au moyen d'une canule de façon à éviter tout contact avec les tissus coagule de façon très lente; mais si le sang subit le contact d'un fragment de muscle frais d'oiseau déposé sur le bord du verre d'expérience, la coagulation est presque instantanée.

Et voici les résultats que l'auteur nous donne de ses expériences :

<i>Sang normal</i>		
3 cc ³ de sang	début de coagulation	coagulation complète
	3 jours environ	4 jours 1/2 plasma abondant

<i>Sang ayant subi le contact du tissu</i>		
3 cc ³ de sang	début de coagulation	c. complète
	30 secondes	40 secondes On peut retourner immédiatement le verre

Si on introduit dans le sang une macération de muscle frais dans du sérum physiologique, on obtient les mêmes résultats; et une seule goutte du produit de macération suffit à amener la coagulation de quelques centimètres cubes de sang. L'auteur en déduit que « c'est à l'activité coagulante des tissus qu'il faut rapporter la prise immédiate en caillot du sang recueilli au niveau d'une plaie ». On pourrait supposer que le tissu agit par le même mécanisme que les poussières, les parois, etc., tout ce que nous avons vu plus haut sous la désignation de substances thromboplastiques. Mais il n'en est rien, car si l'on fait chauffer le tissu frais à 100°, il n'a plus cette action en quelque sorte fulgurante sur la coagulation.

ACTIONS EMPÊCHANTES

1° *Physiques*

L'on recueille du sang dans des récipients à parois non mouillables, ce sang ne coagule qu'au bout d'un temps très long. On peut le recueillir par exemple dans des récipients intérieurement paraffinés ou vaselinés.

2° *Chimiques*

La plupart des sels des métaux terreux retardent la coagulation du sang *in vitro*. Ainsi agissent par exemple les sels de sodium, de potassium, les oxalates et les fluorures. Mais ces différents sels n'agissent pas de la même façon. Le sang rendu incoagulable par le citrate de soude à faibles doses n'est pas modifié dans ses propriétés. Ceci est très important, et cette propriété du citrate rend très différente son action de celle des oxalates et des fluorures. Ces derniers précipitent le calcium sanguin à l'état de précipité insoluble, ils opèrent en quelque sorte une décalcification totale et définitive du sang. Le citrate, au contraire, ne fait que contrecarrer les réactions du calcium. L'explication de ces phénomènes a été donnée par Luigi Sabattani. Il a montré que le calcium, pour manifester son action dans la coagulation, doit être non seulement dissous, mais en outre ionisé. Or, le citrate, le métaphosphate et les pyrophosphates sodiques possèdent cette propriété de diminuer la concentration des ions Ca dans les solutions de ses sels. Les propriétés actives de la coagulation de ce sel se trouvent par conséquent effacées sans pour cela avoir disparu. « En s'unissant au sel de calcium, dit Sabattani, le citrate forme des composés qui ne donnent plus les réactions du calcium : composés qui, pour ce motif, ne donnent plus d'ions Ca. Précipiter la Ca ou en empêcher l'ionisation pour la réaction du calcium, c'est la même chose. Dans les deux cas on a du calcium immobilisé et cela montre

bien comment l'oxalate et le citrate sodique peuvent produire le même effet sur le sang. Nous arrivons ainsi à la conclusion que durant la coagulation non seulement la présence de Ca dissous est nécessaire, mais qu'il faut encore qu'il soit chimiquement actif et ionisable. »

La diminution des ions Ca est prouvée par la moindre conductibilité électrique des mélanges de citrate et de sels de calcium. Donc le calcium n'agissant plus, le serosyme ne pourra plus s'unir au cytozyme pour donner la thrombine et la coagulation ne pourra s'effectuer. Mais si on ajoute des sels de calcium nouveaux dans la solution, ils vont neutraliser le citrate qui s'y trouve en excès, des ions de calcium vont être libérés et la coagulation reprendra son cours normal qui avait été momentanément interrompu.

Il faut trois molécules de citrate trisodique pour immobiliser un atome de calcium. Il est donc facile de calculer la dose de citrate limite nécessaire pour immobiliser une certaine quantité de sang dans son état de fluidité naturelle. On trouve qu'il faut en moyenne 1 gr. 72 de citrate pur pour un litre de sang de chien.

INFLUENCE DE L'ION CALCIUM

Donc, pour qu'un sang coagule il ne suffit pas qu'il contienne du calcium. Supposons par exemple que nous ayons une quantité de calcium supérieure à celle qu'il ne faudrait dans les conditions naturelles pour amener la coagulation. Mais on a ajouté du citrate de soude au sang, et ce citrate a dissimulé le calcium qui ne peut plus manifester son action. En effet, il lui faudrait se trouver à l'état d'ion. Et un sang peut en contenir à l'état « dissous » une quantité aussi grande qu'un sang physiologique normal, sans que pour cela il coagule.

On a pu comparer le plasma sanguin à une solution colloïdale. Vis-à-vis de cette solution, certains corps, les

électrolytes, auront une action précipitante, c'est ainsi qu'agiront par exemple les sels calciques. D'autres, comme le citrate de soude, agiront en sens inverse, ils stabiliseront la solution colloïdale, et empêcheront les sels calciques électrolytes d'exercer leur action précipitante. On voit donc que l'ion calcium peut, selon les conditions, provoquer par son activité la coagulation, ou rester inactif et déterminer l'incoagulabilité. On peut supposer que dans le sang circulant « in vivo » le calcium existe à cet état dissimulé et ne permet par conséquent pas la coagulation. Mais quand le sang sera sorti des vaisseaux, des influences nouvelles vont agir sur son avenir : exposition à l'air, contact avec les substances thromboplastiques de Nolf, etc., etc. Peut-être ces conditions nouvelles pourront-elles suffire à transformer le calcium « dissimulé » en électrolyte précipitant, et si cette mutation se trouve réalisée, le phénomène de la coagulation commencera. Mais on peut supposer aussi que l'action du calcium est neutralisée par toutes les substances secrétées par les organes et qu'on est convenu d'appeler substances anticoagulantes. Nous aurons d'ailleurs l'occasion dans la suite de revenir sur cette intéressante question. Ne seraient-ce pas elles qui, au sortir des vaisseaux, subiraient des modifications telles qu'elles ne pourraient plus entraîner l'action précipitante du calcium. D'ailleurs, quelle que soit l'hypothèse dont on parte, ce qui s'impose c'est l'importance cruciale des sels calciques dans le phénomène de la coagulation. Et certains ont pensé qu'entre le sang circulant dans l'organisme et le sang qui va coaguler in vitro, la seule différence était due à un changement d'état physique du calcium. M. Bloch a rangé la coagulation dans la catégorie des phénomènes catalytiques « le corps nécessaire actif, « le catalyseur » étant le calcium ».

ACTION DU CITRATE IN VIVO

Nous avons dit plus haut qu'il nous fallait prendre environ 1 gr. 72 de citrate de soude pour rendre incoagulable un litre de sang de chien recueilli au sortir des vaisseaux. Mais in vivo les choses se passent tout à fait différemment. Il faudrait, pour rendre le sang incoagulable dans les vaisseaux, injecter une dose de citrate de soude infiniment supérieure à la dose mortelle. On peut faire l'expérience sur un chien en maintenant l'animal en vie au moyen de la respiration artificielle, et l'on constate alors qu'il faut injecter 0 gr. 77 de citrate par kilo de poids vif pour rendre le sang incoagulable. Cette quantité représente 1 gr. de citrate de soude par 100 gr. de sang, c'est-à-dire cinq fois plus qu'il n'en est nécessaire pour empêcher la coagulation du sang in vitro. Ce fait s'expliquerait parce que le citrate in vivo est neutralisé non seulement par le sang mais par tous les tissus de l'organisme. Ces faits montrent suffisamment qu'on peut, sans crainte d'accident, pratiquer la transfusion du sang au moyen de sang citraté. On signale même en humaine des cas d'hémophobie où la correction du temps de coagulation aurait été parfaite après plusieurs transfusions de sang citraté.

Quant au citrate pur, son action sur la coagulation n'est pas tellement bien définie qu'on n'ait pu l'employer dans des buts thérapeutiques diamétralement opposés. Hedon a montré que si on l'injecte à fortes doses in vivo, le citrate de soude diminue la viscosité du sang et augmente sa coagulabilité. Ottemberg se basa sur ces données pour instituer un traitement de l'hémophilie, et dans cette maladie chez les bovidés, Moussu recommande une thérapeutique identique, tandis qu'en chirurgie Nen-höf et Hirschfeld, avant une sanglante intervention, eurent l'idée de pratiquer des injections préventives de citrate de soude. Enfin, Renaud et Juge traitèrent par

ce moyen les dangeureuses hémorragies que l'on observe chez les cancéreux. Et, depuis, le traitement fut étendu aux hémoptysies des tuberculeux, aux hémorragies utérines de l'accouchement et des fibromes. D'autres auteurs emploient le citrate de soude comme anticoagulant in vivo et avec son aide cherchent à lutter contre les thromboses.

ACTION DES SELS DE ZINC

Le sulfate de zinc à la dose de 1/2000 empêche la coagulation aussi bien in vivo qu'in vitro, contrairement à ce qui se passe pour le citrate de soude et les corps similaires. Et les sels de calcium qu'on pourrait ajouter à un sang qui aurait reçu du sulfate de zinc ne rendraient pas à ce sang la propriété de coaguler.

ANTICOAGULANTS BIOLOGIQUES

L'extrait aqueux d'un organe dont la substance a été coagulée et insolubilisée par l'alcool, contient, d'après Schmidt, la cytoglobine qui est énergiquement anticoagulante in vitro. Ajoutée au sang à la dose de 3 % elle en empêcherait la coagulation. L'histone de Lilienfeld (1892) extraite des globules blancs est aussi anticoagulante. D'ailleurs il est possible de déceler dans nombre d'organes (rate, pancréas, ganglions lymphatiques, intestin grêle, rein, testicule, poumon, cerveau), une substance anticoagulante sans doute identique à l'antithrombine qui passe du foie dans le sang sous l'influence de la peptone.

Doyon et Vial ont pu isoler une substance d'origine tissulaire qui a une influence très marquée sur la coagulation in vitro. Ils pensent que l'élément actif proviendrait des corps nucléiques des tissus, et en prolongeant l'autolyse des tissus employés ils obtiennent un produit qui paraît être un nucléoside. Il empêche totalement le

sang de coaguler à la dose de un gramme par 30 litres de sang, et se révèle encore actif à la dose de un gramme pour 50 litres de sang. Les auteurs ont employé dans leur expérience un extrait de ganglions mesentériques du bœuf. Il est facile de constater expérimentalement que tout autre protoplasma cellulaire contient des substances anticoagulantes identiques, et la plupart des extraits d'origine glandulaire possèdent aussi cette propriété.

La décoction aqueuse du segment céphalique de la sangsue présente également une action inhibitrice très marquée sur la coagulation. Jacoby et Franz ont appelé cette substance l'hirudine. Ajoutée au sang, elle le rend indéfiniment incoagulable, quels que soient les tissus frais ou les substances étrangères que l'on pourrait ajouter au mélange pour tâcher d'en obtenir la coagulation. L'hirudine agit comme le liquide de peptone extrait du foie d'un chien ayant subi une injection brusque de propeptone, ce sont des substances du type antithrombine. D'autres substances du type antikinase comme le venin de certains serpents, en particulier le cobra, manifestent aussi une action empêchante très nette.

CHAPITRE II

Procédés de Mesures

1° VITESSE DE COAGULATION

De nombreux moyens ont été utilisés par les auteurs pour mesurer les trois points importants qu'il importait de bien nettement déterminer dans le phénomène de la coagulation. De multiples recherches ont eu respectivement pour but de préciser : 1° La vitesse de coagulation ; 2° L'aspect du coagulum ; 3° La force de coagulation. Ce dernier point qui a été l'objet de travaux plus récents, demande des méthodes d'expérimentation plus complexes. Mais ces résultats ont apporté à la pathologie des données nouvelles, extrêmement intéressantes.

CONDITIONS DE MESURE

Nous allons exposer quelques-unes des nombreuses méthodes qui furent successivement employées. Il convient de remarquer d'ailleurs que pour chacune d'elles les résultats ne sont pas identiques. Aussi l'expérimentateur devra-t-il dans ses recherches se borner à une seule technique, et se placer toujours dans les mêmes conditions, de façon à ce que le sang se trouve toujours soumis aux mêmes influences extérieures, qui, comme nous l'avons vu, ont des répercussions variables et très importantes sur la marche du phénomène.

Dans nos expériences le sang a été successivement recueilli par ponction veineuse dans quelques cas, et par ponction du cœur dans d'autres. On avait toujours eu

soin de tenir l'animal à une diète rigoureuse depuis la veille. Hayem (1898) craignait par la ponction veineuse de produire une lésion de l'endoveine par l'aiguille. Mais Widal, Bensaude et P. E. Weil ont montré l'inocuité de ce procédé. De même notre camarade Muret dans sa thèse (1927) a prouvé qu'on pouvait impunément recueillir du sang chez le chien par ponction du cœur à droite ou à gauche suivant une technique qu'il a précisée. M. Simonnet dans de multiples expériences faites dans son laboratoire n'a eu que très rarement des accidents à la suite de ce procédé qu'il emploie journellement.

Pour éviter que le sang recueilli ne subisse des variations de température, préjudiciables à la comparaison des résultats, le chien devant servir à l'expérience était amené au laboratoire où l'on pratiquait la ponction, et les expériences étaient faites immédiatement sur place. Les tubes employés étaient choisis autant que possible d'un calibre égal, soigneusement nettoyés et stérilisés. Le calibre du tube a une importance capitale, car nous avons pu constater que le sang d'une même saignée mis au contact des parois de verre stérilisées avec la même minutie, peut coaguler avec des différences de temps variant du simple au double suivant que varie le calibre du tube récepteur.

Malgré toutes ces précautions il faut néanmoins avouer qu'il est extrêmement difficile de réaliser strictement les mêmes conditions et la même ambiance au cours de deux expériences successives même très rapprochées dans le temps. Il est en effet impossible d'agir sur les influences sans cesse changeantes qu'exerce le milieu extérieur. Et l'on est certain d'autre part que le même animal servant à plusieurs expériences n'est jamais identique à lui-même. Comment déterminer les corrections qui seraient indispensables en se basant sur tous ces faits qui ont une influence directe ou plus ou moins lointaine sur la coagulation du sang ? Aussi les résultats varient-ils parfois

considérablement, et il faudrait se baser sur un nombre important d'expériences pour pouvoir poser des conclusions très précises.

A. — *Procédé des tubes capillaires (A. Wright)*

On prend un récipient rempli d'eau à 37°. Autour on dispose un cylindre de flanelle comprenant 9 poches. Dans chacune d'elles on place un tube capillaire de 1 $\frac{m}{m}$ de diamètre et 10 $\frac{m}{m}$ de long et un thermomètre. Par aspiration on remplit les tubes à moitié avec le sang à étudier et on note le moment précis où l'on replace le tube dans l'appareil. Après trois minutes on retire le premier tube et on en souffle le contenu sur du papier filtre, et ainsi de suite jusqu'au moment où l'on constate que le contenu du tube peut être chassé en bloc. On admet alors que la coagulation est complète. Et ce résultat pour du sang normal est obtenu au bout de 3 à 6 minutes.

B. — *Sabrazès et Genevil*

On prend des tubes identiques à ceux de Wright et on y place du sang obtenu par piqûre du lobe de l'oreille. On note le moment précis où l'on place les tubes sur un récipient en verre ad hoc muni d'un thermomètre. On brise un tube toutes les 30 secondes jusqu'au moment où l'on trouve dans l'un d'eux un filament de fibrine. Pour du sang normal ce point de coagulation complète est observé au bout de 7 à 8 minutes.

C. — *Procédé des lames (Milian-Duke)*

Recueillir sur deux lames de verre une goutte de sang et noter l'heure exacte du début de l'expérience. En inclinant légèrement la lame on observe que la goutte de sang se déforme. La coagulation est complète quand en inclinant la lame on ne produit plus une déformation de la

goutte. On prend la moyenne entre les vitesses de coagulation des deux lames et on obtient pour du sang normal 15 minutes environ.

D. — *Procédé de la bulle d'air (Lenoble)*

Recueillir du sang dans une éprouvette à fond plat de 1 $\frac{\text{cm}}{\text{m}}$ de diamètre et 2 ou 3 $\frac{\text{cm}}{\text{m}}$ de haut, qu'on remplit jusqu'au bord de façon à former une cupule au sommet de la masse sanguine. Avec une lamelle de verre on ferme le tube emprisonnant une goutte d'air entre sang et verre. Comme dans un niveau d'eau cette bulle est très mobile tant que la coagulation ne s'est pas effectuée. La coagulation parfaite est annoncée par la stabilisation de la goutte d'air dans la forme où l'a surprise le début du phénomène. Celui-ci commence au bout de 2 minutes $\frac{1}{2}$ et est fini au bout de 4 minutes.

E. — *Procédé Achard et Binet*

On cherche à éviter ici les actions favorisantes de la coagulation exercées par les parois de verre ou de métal. On prend deux cristallisoirs de tailles différentes. L'un contient de l'eau à 15° et on y place le deuxième contenant de l'huile de vaseline. La partie du corps où l'on pratique la ponction est préalablement enduite d'huile de vaseline. Puis une goutte de sang est recueillie dans le cristallisoir n° II. Elle va au fond. Toutes les minutes un tube capillaire huilé est plongé jusqu'au contact de la goutte de sang. Tant que celle-ci est liquide, une petite quantité de sang remonte dans le tube capillaire. Quand la coagulation est intervenue il ne remonte dans le tube que de l'huile de vaseline. Le sang normal se coagule en 10 minutes par cette méthode.

F. — *Procédé des éprouvettes (Hayem)*

On prend une éprouvette de 1 $\frac{\text{cm}}{\text{m}}$ de diamètre et de 2 à 3 $\frac{\text{cm}}{\text{m}}$ de haut, à fond plat, très propre et bien sèche. On note un point de repère et on introduit le sang. On note la température ambiante et le moment où l'on a mis dans le tube la première goutte de sang. A un moment donné on peut retourner complètement le tube sans que le sang s'en égoule. Ce procédé très simple et facile à mettre en œuvre nous a servi dans la plupart de nos expériences.

B. — MESURE DE LA FORCE DE COAGULATION .

La vitesse de coagulation peut tromper quant à la force de coagulation d'un sang. Aussi par différents moyens a-t-on cherché à mesurer cette force en dehors de toute autre considération. Pour cela on s'oppose à la coagulation spontanée en l'entravant par l'addition d'un anticoagulant ou en diluant le sang. La force de coagulation est déterminée par la quantité de liquide anticoagulant que l'on doit employer ou le degré de dilution auquel on doit porter le sang.

1° *Procédé des anticoagulants de Chantemesse*

On emploie pour entraver la coagulation des solutions d'oxalate de potasse. Pour un sang normal ce résultat est obtenu avec une solution à 1/800^e. La force de coagulation augmentant, il faut diminuer la dilution de l'oxalate de potassium et l'augmenter si cette force diminue. On note la solution du titre le plus faible qui empêche la coagulation et cette solution servira de mesure à la force que l'on recherche.

2° Procédé du plasma salé de E. Brissaut

Ce procédé est basé sur les propriétés du sérum salé étudiées par Bordet et Gengon. Si on recueille du sang au sortir d'un vaisseau dans une solution de NaCl 50/1000, et qu'on centrifuge le mélange, on obtient un sérum incoagulable. Ce sérum est réparti dans plusieurs tubes, dans lesquels on lui ajoute des quantités croissantes d'eau distillée. Normalement on constate que la coagulation survient lentement (au bout de 40 minutes environ) dans le tube où la concentration a été ramenée à 7/1000. Les limites normales sont comprises entre 1,25 % et 0,45 %.

On a constaté par ce moyen que les cardiopathies et les affections hépatiques montrent un trouble très net de la coagulabilité par diminution de celle-ci.

3° Procédé de Marcel Bloch

Les conditions idéales pour mesurer la coagulation du sang seraient d'obtenir celui-ci exactement avec les propriétés qu'il a quand il circule dans les vaisseaux. Il faut pour cela l'empêcher de coaguler tout en lui conservant les propriétés d'un sang circulant. C'est ce que l'on réalise en lui ajoutant du citrate de soude. La coagulation est donc arrêtée, les sels de calcium étant, comme nous l'avons vu, immobilisés. Il va suffire maintenant d'ajouter du calcium neuf pour voir le phénomène reprendre son cours normal. Pour une quantité, à déterminer, de calcium on observera les premières manifestations, « le seuil » de la coagulation. Et pour une autre dose suffisante on obtiendra une coagulation complète. Entre ces deux termes on aura des états intermédiaires nombreux qui permettront d'étudier le phénomène dans ses phases successives. On ne fait autre chose en réalité que de stabiliser la coagulation dans ses diverses étapes.

La première opération consiste donc à citrater le sang recueilli. Pour obtenir un arrêt prolongé de la coagulation il faut que la teneur en citrate du mélange soit de $1/100^e$, c'est-à-dire qu'il y ait 1 cgr. de citrate pour 1 gr. de sang. On commence par réaliser une dilution sanguine de $1/5^e$, soit 1 cm³ de sang pour 4 cm³ de liquide diluant. Par conséquent le centigramme de nitrate nécessaire pour déterminer l'incoagulabilité devra être contenu dans 4 cm³ de liquide. Autrement dit le mélange doit être effectué avec une solution citratée à $1/400$. Marcel Bloch donne la formule suivante pour le mélange citrant :

{ Citrate trisodique.....	1 gr.
{ NaCl.	7 gr.
{ Eau distillée.....	400 gr.

Le sang est recueilli directement dans une éprouvette graduée en cm³ et dans laquelle on a introduit préalablement la moitié de la solution anticoagulante à l'affleurement du ménisque inférieur, soit par conséquent 2 cm³. On fait tomber le sang dans le tube sans effleurer les parois jusque vers la graduation 3. Le centimètre cube de sang recueilli n'est jamais mesuré exactement, il s'en faut toujours de un ou plusieurs m/m³ en plus ou en moins. Aussi ne complète-t-on pas le volume de la solution anticoagulante jusqu'à la graduation 5. Il faut corriger par excès ou par défaut suivant un calcul fort simple : 1 cm³ de sang pur dans la solution que nous voulons obtenir doit correspondre à 4 cm³ de la solution citratée à $1/400$ (1 centigramme de citrate de soude). $1/10$ de cm³ de sang pur doit correspondre à 0 cm 4 de la solution citratée à $1/400$. Il suffira d'ajouter dans l'éprouvette les 2 cm³ de solution citratée qui y manquent augmentés ou diminués d'autant de fois 0.4 qu'on aura recueilli dans l'éprouvette de $1/10^e$ de cm. de sang pur en plus ou en moins.

Nous avons donc un mélange qui ne coagulera plus spontanément. Il nous reste à l'amener à la dilution

voulue et à y ajouter le calcium neuf qui nous permettra d'étudier le phénomène de coagulation qui surviendra à la suite de cette opération. Le chlorure de calcium est le sel d'élection. Mais il faut préparer une solution calcique rigoureusement titrée et exempte d'impuretés. On prend une solution de CaCl^2 à 0 gr. 5 pour 1.000.

2/10 de cm^3 de cette solution contiennent 0 gr. 0001 CaCl^2

3/10 — — — 0 gr. 00015 —

4/10 — — — 0 gr. 0002 —

Pour que la dilution finale du mélange soit au 1/100° il faudra que chaque tube contienne 4 cm^3 de solution isotonique. Et pour que les volumes définitifs des tubes soient égaux il faudra y ajouter d'autant moins de sérum physiologique qu'on y aura mis plus de chlorure de calcium. Une série de tubes est préparée comme nous l'avons indiqué plus haut, et chacun d'eux ayant reçu 2/10 de cm^3 de sang citraté, aura en volume et en poids un contenu dont la valeur est représentée par le tableau suivant :

Numéros des tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Solution de la cl^2 à 0 gr 5/1000	0 c 3	0, c 3 1	0, c 3 2	0, c 3 3	0 c 3, 4	0 c 3, 5	0 c 3, 6	0 c 3, 7	0 c 3, 8	0 c 3, 9	1 cc
Solution de Na cl à 7/1000	4 cc	3 cc, 9	3 cc, 8	3 cc, 6	3 cc, 6	3 cc, 5	3 cc, 4	3 cc, 3	3 cc, 2	3 cc, 1	3
Teneur en la cl^2	0 g.	0, 00005	0, 0001	0, 00015	0, 0002	0, 00025	0, 0003	0, 00035	0, 0004	0, 00045	0, 0005
Sang pur	0, cc 04	0, cc 04	0, cc 04	0 cc, 04	0 cc, 04	0 cc, 04	0 cc, 04	0 cc, 04	0 cc, 04	0 cc, 04	0 cc, 04
Citrade de soude	0g 0004	0g 0004	0g 0004	0g 0004	0g 0001	0g 0004	0g 0004	0g 0004	0g 0004	0g 0004	0g 0004

Volume total de chaque cube : 4 centimètres cubes.

Il ne reste plus qu'à abandonner les tubes au repos à température constante et à observer les résultats.

CHAPITRE III

De l'influence de l'hypophyse sur la coagulation

Les opinions des auteurs ont considérablement varié quant à l'action de l'hypophyse sur la coagulation. Pourtant tous s'accordent à dire que, aussi bien *in vivo* que *in vitro*, son addition amène des modifications importantes dans la marche de ce phénomène chez l'homme et les animaux.

ACTION DES EXTRAITS ANTÉRIEURS OU POSTÉRIEURS

Perrin, Hanns et Stefanovitch injectent en intraveineuse des extraits de lobe postérieur à des malades atteints d'affections chroniques variées ne retentissant pas sur leur état général, c'est-à-dire sur des individus normaux au point de vue hématologique. 8 fois sur 10 ils ont observé une diminution très nette du temps de coagulation après l'injection. Si le temps de coagulation est les $\frac{2}{3}$ de ce qu'il était auparavant, ils disent que l'accélération est de $\frac{1}{3}$. C'est ainsi qu'ils ont obtenu des accélérations de $\frac{1}{3}$ sur des néphritiques chroniques, et des accélérations pouvant aller jusqu'à la moitié dans des cas de bronchite chronique.

Weil et Boyer injectant des extraits de lobe postérieur arrivent à peu près aux mêmes résultats. Ils obtiennent une accélération presque constante chez l'homme normal. Et, chose intéressante, ils constatent que ces mêmes extraits corrigent de façon à peu près parfaite l'incoagu-

labilité du sang hémophilique tant dans la forme familiale que dans les cas spontanés de la maladie.

Avec des extraits de lobe antérieur, les résultats sont diamétralement opposés. Le sang de lapin est retardé légèrement dans sa coagulation par addition *in vitro* des extraits de cette portion de l'hypophyse, tandis que le sang de l'homme normal voit sa coagulation nettement retardée. Le sang des hémophiles est rendu plus incoagulable encore par addition d'extrait de lobe antérieur. Charles Livon a démontré aussi l'action nettement antagoniste des deux lobes sur la coagulation du sang chez le chien. Cet auteur injecte en intraveineuse des extraits faits, soit avec le lobe postérieur ou nerveux, soit avec le lobe antérieur ou glandulaire, d'hypophyses fraîches ou desséchées de cheval. Dans le premier cas, et malgré la solution anticoagulante dont se sert l'auteur, la coagulation dans la canule du manomètre est tellement rapide, qu'on doit à chaque instant arrêter l'expérience pour enlever les caillots qui obstruent l'appareil. A tel point qu'on est pour ainsi dire empêché de prendre un tracé bien net de l'action du lobe postérieur sur la coagulation. Avec les extraits de lobe antérieur, au contraire, la prise du tracé n'est nullement gênée par la présence de ces caillots.

Ces faits trouvent une éclatante confirmation dans les expériences de Jean La Barre. Celui-ci emploie du plasma préalablement défibriné par l'intermédiaire des staphylocoques. Dans les tubes contenant l'extrait hypophysaire postérieur la transformation du proserozyme en serozyme a demandé le même temps que dans les tubes témoins, tandis que dans ceux qui contenaient de l'extrait hypophysaire antérieur, l'apparition du serozyme subit un retard de 3 à 4 heures 30 minutes.

Une action très nette se manifeste aussi sur la deuxième phase de la coagulation, comme on peut le démontrer au moyen de la méthode de Luns et La Barre. Pour pou-

voir saisir le mécanisme des substances accélératrices comme les extraits de lobe postérieur d'hypophyse, il faut opérer sur des réactifs exempts de toute trace de thrombine. Pour cela on conserve à la glacière pendant deux jours et aussi aseptiquement que possible du sérum et du plasma dioxalaté. De cette façon la coagulation se fait en général au bout de 1 heure dans les tubes contenant le sérum et le plasma de lapin normal. Si on ajoute 1/30 de lobe postérieur on accélère notablement la réaction serozyme-cytozyme donnant naissance à la thrombine. La prise en caillot se fait en effet au bout de 1 heure dans les tubes témoins et au bout de 20 à 30 minutes seulement dans les tubes ayant reçu de l'extrait hypophysaire postérieur. L'addition de 1/20 de lobe antérieur, au contraire, au moment de cette même phase de la coagulation amène un retard de 4 à 6 heures par rapport aux tubes témoins contenant du sérum et du plasma d'un même lapin normal.

Si on ajoute une portion de lobe postérieur au moment de l'action de la thrombine néoformée sur le fibrinogène on constate une accélération manifeste sur la formation de la fibrine alors qu'on n'observe rien de tel avec des extraits de lobe antérieur. Jean La Barre rappelle, comme Arthus l'avait déjà signalé, que les substances contenues dans les lobes antérieurs ou postérieurs d'hypophyse sont incapables de provoquer à elles seules la coagulation d'une substance fibrinogène. En effet, si au cours de la deuxième phase de la coagulation on ajoute au serozyme en milieu calcifié des extraits antérieurs ou postérieurs d'hypophyse au lieu de cytozyme, on ne peut déceler, même dans les 18 heures, aucune formation de thrombine. Néanmoins ces substances peuvent accélérer le mécanisme de la coagulation en activant la formation de la thrombine et de la fibrine.

ACTION DES EXTRAITS TOTAUX

Les différentes expériences que nous avons mentionnées établissent l'action manifeste des extraits hypophysaires sur la coagulation, soit que les auteurs aient fait usage d'extraits antérieurs, postérieurs ou totaux. Mais dans ce dernier cas les opinions les plus contradictoires ont été émises quant aux résultats. Pour les uns, l'extrait total agissant comme le lobe antérieur retarderait la coagulation, tandis que d'autres prétendent que son action est identique à celle du lobe postérieur et amènerait par conséquent une diminution notable du temps nécessaire à la coagulation.

Weil et Boyer dans leurs expériences chez l'homme et le lapin ont employé successivement des extraits partiels ou totaux et ils concluent que l'hypophysine totale détermine une accélération sensible de la coagulation. L'opinion de Livon se rattache à ces mêmes conclusions, et il constate qu'au cours de ses expériences, après injection d'hypophysine totale, les caillots viennent obstruer la canule du manomètre et gêner la prise du tracé. C'est le contraire qu'il observait avec les extraits de lobe antérieur.

J. Stoudinsky affirme que l'influence de l'extrait de lobe postérieur sur la coagulation est inconstante, mais que dans certains cas elle amène pourtant une augmentation de la coagulabilité, et que l'extrait total agit généralement dans le même sens aussi bien *in vivo* que *in vitro*. Comme on le voit ces opinions sont assez peu concordantes, et le champ restait largement ouvert à l'expérimentation.

CHAPITRE IV

Vitesse de coagulation chez le chien normal

Nos expériences ont toutes été faites au laboratoire à une température sensiblement constante, aussi négligerons-nous de noter à chaque fois les variations infimes de la température ambiante. Nous avons choisi pour cette série d'expériences des tubes à fond plat de 8 $\frac{m}{m}$ de diamètre et de 3 $\frac{m}{m}$ de hauteur toujours rigoureusement stérilisés et propres. On marque sur la paroi externe de ces tubes un repère, de façon à opérer toujours sur la même quantité de sang, soit environ 2 cc. 5.

1^{re} EXPÉRIENCE. — *Chien de race commune.*

L'animal a été maintenu à la diète la plus rigoureuse depuis la veille de l'expérience. On pratique une saignée par ponction du cœur à gauche. Puis, comme d'ailleurs dans toutes nos expériences, nous laissons s'écouler les premières gouttes de sang, afin que des facteurs secondaires ne viennent pas troubler nos résultats. Nous prenons alors une série de quatre de nos tubes et nous y laissons arriver le sang directement sans l'intermédiaire d'un tube collecteur ou d'une seringue, et en ayant soin de noter le moment précis où la première goutte tombe dans chaque tube. Au bout de 3 minutes on retourne le premier tube, puis on renverse successivement les trois autres en des temps augmentant de 15 secondes pour chacun d'eux. On peut renverser complètement le tube n° 3 et le tube suivant sans que le sang s'en écoule. On

constate que la coagulation est complète dans ces deux éprouvettes et elle s'est effectuée au bout de 3 minutes 30 secondes.

2° EXPÉRIENCE. — *Sur le même chien.*

On pratique une ponction du cœur à gauche, et le sang est recueilli directement dans les éprouvettes en effleurant le moins possible les parois. L'expérience a commencé à 10 h. 5 min. A 10 h. 8 quand on renverse le 1^{er} tube, un léger filet de sang seul s'écoule le long des parois. La coagulation qui est là presque totalement effectuée est complète dans le tube n° 2. Elle a demandé 3 minutes 15 secondes à se manifester.

3° EXPÉRIENCE. — *Chien de berger allemand.*

L'animal est à jeun depuis la veille. Il est traité dans les hôpitaux de l'Ecole pour luxation coxo-fémorale. Nous le considérons comme sain au point de vue hématologique. Le sang est recueilli par ponction du cœur à droite. Et la première goutte tombe dans notre tube n° 1 à 10 h. 45. Dans les trois premiers tubes renversés, le sang s'écoule encore le long des parois. Seul le n° 4 peut être retourné dans tous les sens sans que le sang qui est pris en caillot ne s'en écoule. Le temps de coagulation est donc ici de 4 minutes.

4° EXPÉRIENCE. — *Chien de race commune.*

Dans une première série de tubes nous recueillons du sang par ponction du cœur à gauche. La coagulation complète est obtenue au bout de 4 minutes. Nous prenons alors une autre série de tubes dans lesquels nous introduisons du sang obtenu par ponction de la saphène gauche. La coagulation complète est survenue ici au bout de 3 minutes 45 secondes.

5° EXPÉRIENCE. — *Chien fox.*

Du sang recueilli par ponction du cœur à gauche coagule complètement au bout de 3 minutes 25 secondes. Une autre série de tubes est préparée avec du sang provenant de la veine radiale droite. Et si on retourne les éprouvettes successivement, on constate que le caillot est définitivement formé et ne change pas d'aspect au bout de 3 minutes 45 secondes.

Ainsi une série d'expériences nous a permis de déterminer que le temps moyen de coagulation du sang chez le chien normal, le sang étant recueilli dans des éprouvettes de 8 $\frac{m}{m}$ de diamètre, était de 3 minutes 30 secondes environ.

Nous avons aussi tenu à nous assurer qu'il n'existait pas de différences notables entre les temps de coagulation du sang recueilli soit dans le cœur soit dans la veine. Mais rien de semblable ne nous est apparu au cours de nos expériences. En comparant nos résultats il nous est impossible d'établir des écarts constants et appréciables.

MODIFICATION DE LA COAGULATION AU MOMENT DE LA DIGESTION

6° EXPÉRIENCE. — *Chien de race commune.*

Un premier prélèvement de sang est opéré le matin sur cet animal laissé à jeun depuis la veille. Le sang est recueilli comme précédemment après ponction de la saphène gauche dans des éprouvettes de 8 $\frac{m}{m}$ de diamètre. Ce sang coagule en 4 minutes. Immédiatement après l'expérience l'animal reçoit un repas copieux. Des occupations imprévues nous ayant obligé à laisser l'animal en repos, nous le reprenons 4 heures plus tard. Et de nouveau nous faisons une prise de sang par ponction de la saphène gauche. La coagulation est complète au bout de 4 minutes. Il ne semble pas qu'aucune modification soit intervenue. Ou tout au moins un trop long intervalle

écoulé depuis la prise du repas ne permet pas de constater si, pendant la digestion, il y a eu des changements notables dans le cours de la coagulation. Nous remettons l'animal à la diète absolue jusqu'au lendemain matin, et à 7 h. 45 nous lui donnons une abondante pâtée. A 10 heures on prend du sang de cet animal par ponction de la veine jugulaire gauche. La coagulation est totale au bout de 4 minutes 40 secondes. A 11 heures, le sang prélevé à la saphène droite n'est pas tout à fait coagulé en 4 minutes 20 secondes.

7° EXPÉRIENCE. — *Chien fox.*

Sur cet animal à jeun depuis la veille, nous pratiquons une ponction du cœur à droite. La coagulation est établie dans nos tubes en 3 min. 30 sec. en moyenne. Nous donnons alors un repas abondant à l'animal, puis nous le laissons en repos durant 1 h. 1/2. A ce moment une nouvelle ponction nous donne un sang qui coagule en 4 minutes en moyenne. 3 heures après la prise du repas on peut constater que la coagulation se fait de nouveau plus rapidement, le temps se rapproche sensiblement de ce qu'il était au début de l'expérience. Un certain nombre d'expériences semblables nous a confirmé cette hypothèse de la diminution de la coagulation durant la digestion. On avait cru tout d'abord que ce fait était dû à l'absorption de produits de digestion des protéines (vasodilatine de Popelski). Mais on a démontré que, dans un repas fictif où cette absorption n'existe pas, il y a néanmoins une diminution très nette de la coagulation. Czubalski dit que ce phénomène est dû au travail des glandes digestives « et l'intensité du changement dans la coagulation du sang continue à être proportionnelle à la quantité de sucs excrétés, c'est-à-dire à la force du travail des glandes ». Et c'est ce qui explique que la diminution de la coagulation puisse s'observer au cours d'un repas

fictif, en effet dans ce cas les glandes digestives travaillent activement. On a remarqué en outre que le nombre des plaquettes diminuait considérablement dans le sang au moment de la digestion, et l'on a voulu voir une relation intime entre ce phénomène et la diminution de la coagulation.

FORCE DE COAGULATION CHEZ LE CHIEN NORMAL

Pour cette série d'expériences nous préparons un certain nombre de tubes selon la technique de M. Bloch que nous avons exposée plus haut. Au début il est indiqué d'opérer sur un nombre assez considérable de tubes, de façon à avoir des intermédiaires nombreux, un champ d'observation plus étendu, et juger exactement à partir de quel point commencent les modifications et l'endroit précis où elles s'arrêtent.

Rappelons que nos tubes sont disposés de la façon suivante :

N° des tubes	1	2	3	4	5	6
Sang pur	—	—	—	—	—	—
Citrate de Na	0,0004	0,0004	0,0004	0,0004	0,0004	0,0004
Ca cl ²	0	0,0001	0,0002	0,0003	0,0004	0,0005
Eau	4cc	3,8	3,6	3,4	3,2	3

On dénombre les tubes suivant le rapport de la quantité de calcium à celle du citrate de soude contenu dans chacun d'eux. Ces rapports sont :

N° des tubes	1	3	5	7	9	11
témoin	$\frac{0,0004}{0,0001} = 4$	$\frac{0,0004}{0,0002} = 2$	$\frac{0,0004}{0,0003} = 1,33$	$\frac{0,0004}{0,0004} = 1$	$\frac{0,0004}{0,0005} = 0,8$	

Si on laisse les tubes en repos à température constante après les avoir bien agités, au bout d'un temps déterminé on observe que des modifications importantes s'y sont opérées. Dans les premiers le sang s'est accumulé dans le fond sous la forme d'une petite lentille qui se redissout facilement en agitant légèrement le tube. A partir d'un point, toujours le même, pour un même sang, le milieu est troublé par la présence d'un très léger réseau fibrineux blanchâtre, tandis que dans le fond du tube se sont rassemblés les éléments figurés sous forme de la petite lentille rouge. Ce point représente la première manifestation de la coagulation commençante, c'est le « seuil de la coagulation ». Dans les tubes suivants le reticulum fibrineux est de plus en plus nettement perceptible. Et de plus il se colore aussi progressivement, car à mesure que la coagulation augmente, il englobe dans ses mailles des éléments figurés plus nombreux qui lui communiquent leur coloration. Enfin dans un dernier tube, le caillot est complètement rouge et très nettement visible, il englobe tous les globules sanguins. On convient de dire qu'à ce moment la coagulation est totale. Ce point est désigné comme étant celui de la « coagulation complète ». Ces deux extrêmes « seuil et coagulation complète » varient suivant que la force de la coagulation du sang est plus ou moins grande. Plus la coagulation est forte, et plus le rapport que nous avons établi plus haut est fort et réciproquement. Ce rapport constitue comme on le voit un véritable « indice coagulométrique ».

1^{re} EXPÉRIENCE. — *Chien de race commune 18 mois.*

Nous pratiquons une prise de sang par ponction de la veine radiale droite. A 11 h. 25 nous avons terminé la préparation des 11 tubes suivant la méthode précédente. A 15 h. 25 un léger réseau blanchâtre devient perceptible dans les tubes de 9 à 11. A 16 h. 25 la coagulation com-

mence à se manifester de façon presque imperceptible dans le tube 4, tandis qu'elle est nettement plus avancée dans les tubes suivants. Enfin à 19 h. 25 on observe dans le tube n° 3 un très fin reticulum blanc assez difficile à percevoir, tandis qu'il augmente et devient progressivement plus coloré dans les tubes suivants. Dans les tubes 9 à 11 il est bien rouge et englobe la totalité des éléments figurés du sang. Donc seuls le tube témoin et le tube n° 1 sont restés exempts de traces de coagulation. La lentille rouge qui s'est déposée au fond se redissout facilement si on agite très légèrement.

2° EXPÉRIENCE. — *Chien de race commune 18 mois.*

Cette fois nous prenons le sang par ponction du cœur à droite. Et à 11 h. nos tubes sont préparés et abandonnés au laboratoire. A 15 h. 30 on observe déjà un léger début de coagulation dans le tube 4 tandis qu'à partir du tube 5 le caillot est plus dense et plus facile à percevoir. A 17 h. 30 la coagulation est commencée dans le tube 3, elle se révèle par un réseau extrêmement ténu de filaments blanchâtres. L'aspect du caillot est à ce moment sensiblement identique dans tous les autres tubes, sauf peut-être dans le n° 4 où il semble plus léger. A 19 h. la coagulation est complète dans les derniers tubes, où l'on a un caillot de forme conique parfaitement rouge de la base au sommet. Seuls les tubes 3 et 4 ont un coagulum blanchâtre au sommet, légèrement rosé à la base, et on distingue encore un dépôt de cellules tapissant le fond de l'éprouvette. Aucune coagulation ne s'est manifestée dans le tube témoin.

3° EXPÉRIENCE. — *Chien de berger Allemand 4 ans.*

La prise de sang est faite par ponction du cœur à droite. A 10 h. 30 les tubes sont prêts. A 15 h. 30 un début de coagulation commence à se manifester dans les der-

5° EXPÉRIENCE.

Nous opérons cette fois sur le même chien que dans l'expérience précédente, mais nous avons eu soin de maintenir l'animal à la diète depuis la veille. Le sang est recueilli par ponction du cœur à gauche et l'expérience est mise en cours à 11 h. 25. A 16 h. 30 on trouve un fin réseau de fibrine dans le tube 3. Plus coloré dans les tubes suivants, il est bien rouge dans le n° 7 et ne varie pas dans son aspect pour les autres tubes de la fin de la

0,0004

série. On peut donc admettre que le rapport $\frac{0,0004}{0,0003} = 1,33$

0,0003

est l'indice d'une coagulation totale. Il n'y a aucune trace de coagulation dans les tubes 1 et 2. Dans le tube 3 se trouve donc la quantité de CaCl^2 correspondant au seuil de la coagulation. Ce qui correspond au rapport 0,0004

$\frac{0,0004}{0,0001} = 4$. Le seuil est donc à l'indice 4.

0,0001

0	4	2	1.33	1	0.8	0.66	0.57	—	—	—
	seuil			V						
$\leftarrow$										
Coagulation complète										

6° EXPÉRIENCE. — Chien fox 3 ans.

L'animal n'a pas mangé depuis la veille à 18 heures. On prépare 11 tubes avec du sang provenant d'une ponction du cœur à droite et les mélanges sont finis à 10 h. 15. A 16 h. 30 on constate que, comme dans l'expérience précédente, la coagulation se décèle à partir du tube N° 3. On peut considérer la coagulation comme étant complète à partir du tube N° 4. Le seuil a donc pour indice 4 et la coagulation est totale à l'indice 1,33.

0	4	2	1.33	1	0.8	0.66	0.57	—	—	—
	seuil			V						
$\leftarrow$										
Coagulation complète										

CHAPITRE V

Vitesse de coagulation après injection d'Hypophysine

Nous avons vu précédemment que le sang de l'animal considéré comme normal coagulait en un temps variant légèrement aux environs de 3 minutes 30 secondes. Nous nous sommes alors proposé d'observer quelles seraient les modifications amenées dans la marche du phénomène chez ces mêmes chiens après une ou plusieurs injections d'hypophysine « standart ». Afin que les saignées précédentes ne puissent venir en rien troubler les résultats constatés, nous avons pris soin de laisser s'écouler une dizaine de jours entre un certain nombre de nos expériences sur le même chien.

1^{re} EXPÉRIENCE. — *Chien N° 1.*

Cet animal est placé aussi exactement que possible dans les conditions de l'expérience correspondante. Pour plus de précision nous avons cherché à réaliser cette identité de milieu dans les expériences suivantes, aussi ne reviendrons-nous pas sur ces considérations. On fait une injection hypodermique d'hypophysine « standart », puis l'animal est laissé au repos dans le laboratoire. Il est à remarquer qu'à la suite de chacune de ces injections nous avons eu à noter des phénomènes généraux assez caractéristiques sur lesquels nous reviendrons plus loin. Au bout d'une demi-heure on recueille par le procédé

des tubes du sang de ce chien N° 1 par ponction du cœur à gauche. La vitesse de coagulation n'a nullement varié, elle est stationnaire à 3 minutes 30 secondes. Au bout d'une heure une autre prise de sang est effectuée par ponction cardiaque, et aucune modification n'est encore constatée. Enfin une heure et demie après l'injection on prend de nouveau du sang, et cette fois on constate une notable différence dans les résultats, puisque la coagulation complète est obtenue vers 2 minutes 20 secondes. L'animal est alors laissé en repos pendant une heure, puis on pratique une nouvelle ponction, trois heures se sont donc écoulées depuis l'injection d'extrait hypophysaire. Rien n'est changé depuis le précédent résultat recueilli, et la coagulation est encore complète au bout de 2 minutes 20 secondes.

2° EXPÉRIENCE. — *Chien N° 3, Berger Allemand.*

On fait, en sous-cutanée, une injection de 1 cm³ d'extrait d'hypophyse totale sans précautions spéciales. Une heure après cette opération on ne constate aucune modification dans la marche du phénomène. Mais la ponction suivante révèle une augmentation très nette de la vitesse de coagulation. On peut en effet retourner complètement les tubes au bout de 2 minutes 10 secondes sans que le sang s'en écoule, et l'injection d'hypophyse est faite depuis deux heures.

3° EXPÉRIENCE. — *Chien N° 4, Race commune.*

L'injection d'hypophysine est faite à 8 heures du matin. A 9 h. 30 on constate que la vitesse de coagulation qui était primitivement de 3 minutes 45 secondes n'est plus maintenant que de 2 minutes 30 secondes. A 11 heures une nouvelle prise de sang nous montre que le temps de coagulation est resté stationnaire à 2 minutes 30 secondes. A 18 heures nous prenons de nouveau

du sang et nous observons que la coagulation s'effectue au bout de 3 minutes 40 secondes, soit sensiblement ce que nous avons observé avant l'expérience.

4° EXPÉRIENCE. — *Chien fox N° 5.*

Le temps de coagulation était primitivement de 3 minutes 45 secondes chez cet animal. Il reçoit en sous-cutanée une injection de 1 cm³ d'hypophysine « standart ». Après 1 h. 1/2 nous pouvons constater un accroissement très sensible dans la vitesse de coagulation. On peut en effet retourner les tubes après 2 minutes 20 secondes d'expérience. Quatre heures après l'injection, une nouvelle prise de sang nous montre une vitesse de coagulation qui a monté à 2 minutes 45 secondes. Douze heures après le début de l'expérience le sang coagule en trois minutes. Et le lendemain dans la matinée une dernière prise de sang nous permet d'observer que la coagulation est redevenue normale et est totalement effectuée en 3 minutes 45 secondes.

5° EXPÉRIENCE.

Nous avons opéré ici sur un chien neuf, et l'injection d'extrait hypophysaire a été pratiquée en intraveineuse. A la faveur de la ponction veineuse et quelques minutes après avoir poussé lentement notre injection nous avons recueilli le sang qui nous était nécessaire afin de faire une détermination préliminaire de la vitesse de coagulation. Le résultat ainsi obtenu nous a montré que la coagulation complète était réalisée au bout de 3 minutes 30 secondes. De plus la dose d'hypophysine injectée a été doublée, et c'est 2 cm³ d'extrait que nous avons poussés dans le torrent circulatoire. Deux heures après cette injection, du sang a été recueilli par ponction veineuse à la saphène gauche. Et nous avons pu noter une augmentation sensible de la vitesse de coagulation, puisqu'on

a pu considérer le phénomène comme achevé au bout de 2 minutes 10 secondes. Quatre heures après, une autre expérience nous donne un temps de coagulation de 2 minutes 40 secondes. Et une dernière détermination pratiquée le lendemain matin nous révèle que toute action activante a cessé et que les choses sont exactement revenues à leur point de départ, le sang coagulant de nouveau en trois minutes et demie.

6° EXPÉRIENCE.

Sur un chien neuf nous déterminons un temps de coagulation de 3 minutes $1\frac{1}{2}$. A la faveur de la même ponction veineuse nous injectons $1\text{ cm}^3\ 1\frac{1}{2}$ d'extrait hypophysaire. On peut constater que l'action activante de l'hypophysine s'est très nettement manifestée deux heures après l'injection. La vitesse de coagulation est augmentée, elle est maintenant de 2 minutes 40 secondes. Au bout de trois heures une nouvelle détermination nous donne un temps sensiblement identique pour la coagulation complète. Tandis que quatre heures après le début de l'expérience l'action commence à diminuer manifestement puisque la vitesse est devenue de trois minutes exactement.

7° EXPÉRIENCE.

Il nous a paru intéressant de voir quelle serait l'action d'une nouvelle injection d'hypophyse chez un sujet auquel une première injection aurait été faite peu de temps auparavant, et alors que cette première dose injectée manifesterait encore son action. A cet effet nous avons pris un chien et nous avons déterminé la vitesse de coagulation de son sang qui était de 3 minutes 45 secondes. Puis, immédiatement après, nous lui avons injecté en intraveineuse 1 cm^3 d'hypophysine. Au bout de deux heures nous avons pu constater ainsi que dans

nos expériences précédentes que la vitesse de coagulation s'était accrue. La coagulation complète était obtenue en 2 minutes $1/2$. A ce moment nous avons de nouveau injecté 1 cm^3 d'extrait en intraveineuse. Une heure après, c'est-à-dire trois heures après le début de l'expérience le temps de coagulation n'a pas subi la diminution qu'on aurait pu escompter, il est resté stationnaire à 2 minutes $1/2$. Après quatre heures d'expérience l'action de l'extrait hypophysaire peut être considérée comme terminée puisque le sang coagule de nouveau en 3 minutes et demie.

8° EXPÉRIENCE.

Enfin nous avons vu qu'au bout de 5 à 6 heures, la vitesse de coagulation était redevenue à peu près ce qu'elle était avant le commencement de l'expérience. Dans certains cas même on pouvait constater que le temps de coagulation semblait avoir subi un léger allongement, pouvant persister pendant près de 24 heures. Nous avons voulu voir comment agirait à ce moment une nouvelle injection d'hypophysine.

Nous avons pris pour cela le chien qui avait servi à notre expérience de la veille. Et nous avons commencé par vérifier que son sang coagulait toujours en 3 minutes $1/2$. Nous avons alors injecté 1 cm^3 d'hypophysine « standart ». Une première prise de sang opérée 1 h. $1/2$ après l'injection ne nous apporte aucune modification dans nos résultats. Comme dans les expériences précédentes la coagulation est intervenue en 2 minutes $1/2$. Après trois heures nous prenons de nouveau du sang et nous pouvons constater que la vitesse de coagulation est redevenue ce qu'elle était. Dans les deux heures qui suivirent nous fîmes de nouveau deux déterminations et la vitesse de coagulation reste sensiblement cantonnée aux environs de 3 minutes $1/2$.

Par conséquent notre nouvelle injection d'hypophyse dans ce sang qui en avait déjà reçu une dose environ 24 heures auparavant, n'a amené aucune modification sensible dans l'activité coagulante de celui-ci.

CHAPITRE VI

La force de coagulation après l'injection d'Hypophysine

La série des expériences que nous avons faites en vue de déterminer la force de coagulation chez le chien nous a montré que, d'une façon à peu près constante, et dans les conditions d'expérience que nous avons précédemment énoncées, nous pouvions considérer que le seuil de la coagulation avait pour indice 4 et la coagulation complète 1,33. Quelles modifications les injections d'hypophysine vont-elles amener dans ces résultats ? Tel a été le but des recherches que nous avons poursuivies dans les expériences suivantes.

1^{re} EXPÉRIENCE. — *Fox terrier, 3 ans.*

Sur cet animal, dans plusieurs expériences pratiquées en des temps assez éloignés les uns des autres, nous avons déterminé un seuil de coagulation qui s'est cantonné invariablement à l'indice 4. Ces résultats successifs concordants nous ont permis de donner à ce chiffre 4 la valeur d'une constante chez ce même chien, et de le prendre pour point de comparaison dans nos expériences suivantes. Nous injectons donc à cet animal 1 cm³ d'hypophysine par voie sous-cutanée. Une heure après nous pratiquons une ponction cardiaque et nous prélevons la quantité de sang nécessaire à la préparation de nos tubes. Le temps normal de l'expérience étant écoulé, nous

n'avons rien constaté de particulier dans les résultats. Le coagulum affecte partout la même forme et le même aspect que nous lui connaissions dans cette même expérience pratiquée sur le sang du chien n'ayant pas reçu d'injection d'hypophysine.

2° EXPÉRIENCE.

Mais à la faveur de cette injection d'extrait hypophysaire une autre prise de sang avait été effectuée dans les mêmes conditions une heure et demie après l'injection. Or, ici, il nous a été donné de constater que le sang avait manifestement subi une intéressante modification dans ses propriétés. Dans le deuxième tube, c'est-à-dire à l'indice 4 où nous avons coutume de trouver le seuil de la coagulation avec un fin reticulum blanchâtre à peine perceptible, nous trouvons cette fois un caillot nettement organisé et, de même que dans tous les autres tubes de la série, il est fortement coloré par les cellules qui sont restés emprisonnées dans son réseau de fibrine. Il y a donc eu ici, sans aucun doute, une action adjuvante sur la force de coagulation. Pour ne pas fausser les résultats nous avons laissé l'animal au repos plusieurs jours avant de chercher une confirmation à cette observation, et chaque fois nous avons pu constater la similitude des résultats avec une netteté caractéristique.

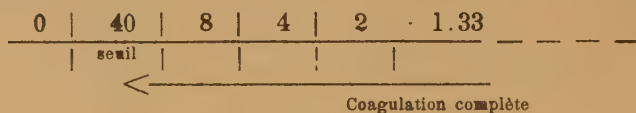
3° EXPÉRIENCE.

Les expériences précédentes nous prouvaient que bien évidemment il y avait eu un accroissement de la force de coagulation. Le seuil était avancé puisqu'à l'indice 4 nous trouvions un caillot bien organisé. Aussi pour déterminer un nouveau seuil dans ce cas de coagulation exagérée il nous fallait modifier dans nos tubes la teneur en solution de chlorure de calcium. C'est ce que nous avons fait en diluant notre solution au 1/10 de façon à avoir

dans nos tubes : N° 1=0,00001 CaCl^2 indice 40.
N° 2=0,00002 CaCl^2 indice 8; etc.

De cette façon nous avons obtenu une série d'indices nouveaux qui nous ont permis d'assigner des limites aux stades de l'hypercoagulabilité que nous avons observée.

Ayant donc repris notre chien nous lui avons fait une injection d'extrait hypophysaire, puis ayant pris du sang par ponction cardiaque nous avons préparé une série de tubes avec la solution de chlorure de calcium diluée. Le temps normal de l'expérience étant écoulé, nous constatons en effet une augmentation fort sensible de la force de coagulation puisque le seuil est nettement perceptible à l'indice 40, et que le coagulum a sensiblement le même aspect partout à partir du tube indice : 4. Nous pouvons même constater que le phénomène s'accompagne d'une hyperretractilité bien accentuée dans toute notre série de tubes.



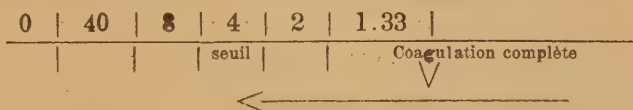
4° EXPÉRIENCE. — *Chien de berger Allemand.*

L'animal ayant reçu une injection de 1 cm³ d'hypophy-sine standart nous prenons du sang à la veine saphène gauche 1 heure 1/2 après l'injection et nous préparons une série de 6 tubes. Après 5 heures d'attente dans les conditions connues, nous retrouvons les mêmes résultats que nous avons rapportés plus haut. Le sang de ce chien a été modifié dans ses propriétés au point de lui conférer une augmentation très sensible de sa force de coagulation. Et comme nous l'avons déjà remarqué l'hypercoagulation s'est accompagnée d'une hyperretractilité considérable. A partir de l'indice 4 où nous considérons la coagulation comme complète le sang s'est collecté au milieu de la solution en une très mince colonne fortement

colorée. Dans le tube 2 à l'indice 40 on distingue à peine un réseau extrêmement ténu tandis que toutes les cellules se sont réunies dans le fond en une lentille sombre. Dans une série d'expériences analogues nous avons toujours observé ces phénomènes et obtenu ces mêmes résultats avec une constante régularité.

5° EXPÉRIENCE.

Notre chien ayant reçu une injection d'hypophysine nous l'abandonnons au laboratoire pendant 3 heures. Et au bout de ce temps nous prenons du sang veineux à la saphène dans le but d'observer la persistance du phénomène d'accroissement de la force de coagulation. Mais nous avons pu constater que d'une façon presque générale, pourrait-on dire, l'action des extraits hypophysaires ne se manifeste pas si longtemps. Et l'on constate de façon à peu près constante que le mélange reste absolument limpide jusqu'à l'indice 4. Là on retrouve l'apparence caractéristique du seuil de la coagulation, et la coagulation complète se retrouve elle aussi au point que nous considérons comme normal. Et comme si aucune modification n'était intervenue entre temps nous trouvons de nouveau :



Ces recherches nous permettent donc d'établir que les extraits hypophysaires ont sur la force de coagulation une action qui, au cours de nos expériences, ne nous a presque jamais paru défaillante. Le processus adjuvant ne commence guère à se manifester que 1 heure 1/2 après l'injection sous-cutanée de l'extrait. Et l'on peut généralement admettre que 3 heures après l'injection toute action favorisante a cessé de se produire et que les indices sont redevenus normaux.

Des suites immédiates de l'injection

Au cours de nos expériences il nous a été donné de faire quelques remarques sur les suites immédiates de l'injection d'hypophysine. Celle-ci, chaque fois que nous l'avons pratiquée, fut suivie d'un certain nombre de phénomènes généraux qui au début ont pu paraître assez inquiétants pour que nous ayons cru bon de les rapporter ici.

Environ 5 minutes après l'injection sous-cutanée de 1 cm³ d'extrait hypophysaire l'animal commence à manifester une certaine inquiétude. Puis brusquement survient une phase d'excitation très fugace et qui se traduit par des mouvements de défense désordonnés. D'ailleurs cette période d'excitation est immédiatement suivie d'une période de prostration d'une durée beaucoup plus grande. A ce moment les grandes fonctions sont considérablement accélérées. Dans certains cas, le cœur est littéralement affolé et toujours son rythme est nettement accéléré. L'animal présente un facies hagard et répond mal aux excitations extérieures. Une dyspnée très intense commence à se manifester. Et un ptyalisme abondant met bientôt une mare de salive devant l'animal. Nous avons même vu dans certains cas des mictions assez abondantes et parfois du tenesme. Ces symptômes alarmants ne se prolongent en général pas au-delà d'une dizaine de minutes. Après quoi les fonctions reviennent progressivement vers la normale et au bout d'un quart d'heure l'animal ne semble nullement incommodé par l'injection qu'il a reçue. Mais si l'on refait à ce moment une nouvelle dose d'extrait on voit les mêmes phénomènes se reproduire avec la même intensité. Dans aucun cas nous n'avons eu à constater d'accidents plus graves. Mais ces symptômes qui sont constants à la suite de l'injection peuvent malgré tout inquiéter si l'on n'en est pas averti.

CHAPITRE VII

Mode d'action des extraits

Ayant constaté l'action indiscutable que les extraits hypophysaires exerçaient sur la coagulation du sang, nous avons été amené tout naturellement à nous demander par quel mécanisme cette action pouvait se produire. Nous ne prétendons pas donner une explication définitive de ces faits, mais une explication nous a pourtant semblé logique. C'est celle qu'on est amené à donner de l'action bienfaisante de l'opothérapie employée comme traitement adjuvant après la greffe dans l'espèce humaine.

On n'ignore pas quels sont les heureux effets des greffes glandulaires opérées pour rendre aux organes hormoni-pares l'activité fonctionnelle qu'ils avaient perdue par sénilité par exemple ou qui leur avait toujours fait défaut par malformation congénitale. Les cellules homonigènes de la glande greffée étaient incapables avant l'opération de transformer en hormones les substances hormonipares du milieu ambiant. Or avec le greffon on introduit dans la glande des cellules endocriniennes provenant d'un organe sain et en pleine activité. Ces cellules contiennent des substances hormonigènes qui ont subi des transformations physiologiques plus ou moins profondes vers leur transformation complète en hormone. Or à la faveur des délabrements opératoires de nombreuses communications lymphatiques et sanguines se sont établies entre la glande et le greffon qu'on y a inclus. Les cellules endocriniennes de cette glande qui étaient incapables

d'élaborer par elles-mêmes des hormones sont néanmoins restées capables d'opérer la très légère transformation que nécessitent encore les substances hormonigènes du greffon pour être transformées en hormones. Et pendant un certain temps l'organe semble avoir recouvré son activité sécrétrice et l'action bienfaisante qui en résulte est une augmentation de vitalité de tout l'organisme. Mais bientôt le greffon est résorbé. Pourtant la glande endocrine à qui ce renouveau d'activité passagère a rendu un peu de sa puissance fonctionnelle primitive ne perd pas immédiatement le bénéfice qu'elle avait retiré du fait de la greffe; elle demeure capable dans une certaine mesure et pour une durée variable de parfaire la transformation en hormones des substances hormonipares que l'on introduira par un moyen quelconque dans l'organisme déficient. C'est ce qui explique l'action bienfaisante de l'opothérapie survenant comme facteur adjuvant de la greffe et alors que le greffon étant résorbé l'action de celle-ci tend déjà à disparaître. Ces produits opothérapiques que l'on introduit dans l'organisme contiennent en effet de grosses quantités de substances hormonigènes que la glande revivifiée pourra désormais utiliser.

Ces faits nous permettent donc de déduire que l'opothérapie apporte à l'organisme des substances hormonigènes faciles à transformer en hormones par les glandes homologues ou si l'on préfère des substances provenant du milieu extérieur, en voie de transformation chimique et qui sont chimiquement très proches des produits de sécrétion de la glande homologue.

Nous pouvons supposer que l'hormone apportée à l'organisme par la sécrétion de l'hypophyse ait à jouer un rôle indéfini dans le phénomène de la coagulation du sang. Si nous injectons dans l'organisme un extrait hypophysaire ayant subi le moins possible de transformations physiques ou chimiques avant son introduction,

nous envoyons dans le sang de nouveaux produits facilement transformables. Ces produits vont non seulement être transformés pour donner des hormones nouvelles, mais ils vont activer, « donner un coup de fouet » à la glande homologue. Les hormones étant déversées dans le sang en plus grandes quantités, l'équilibre humoral va s'en trouver momentanément rompu et de là les phénomènes que nous avons observés au cours de cette étude.

CONCLUSIONS

Nous avons cherché à donner un aperçu de la complexité que présentait le vaste problème de la coagulation du sang. Nous sommes encore bien loin d'une explication rationnelle des causes de ce phénomène et son mécanisme lui-même a donné lieu à tant de controverses que nous ne pouvons que constater l'incertitude des résultats que nous ont apportés tant de minutieuses recherches. Il est toutefois de nombreux points que la science a remarquablement éclairés, et nous avons pu le voir particulièrement avec ce qui a trait aux causes favorisant ou au contraire faisant obstacle à la coagulation. Il est encore un autre but que se sont proposé de nombreux chercheurs, c'est celui de définir la vitesse de coagulation ou le temps que met à se prendre en caillot le sang issu du torrent circulatoire. On s'est toujours préoccupé en effet de l'importance capitale que pouvait présenter au point de vue pathologique cette mesure dont la nécessité s'impose tout naturellement à l'esprit de l'observateur. Chacun imagina une méthode qui variable dans sa complexité donna des résultats assez différents pour que l'on ait pu souhaiter de trouver une technique simple et précise. De l'exposé de ces diverses méthodes, nous avons cru pouvoir conclure que celle qui réunissait ces qualités et répondait bien aux conditions de précision que nous énoncions plus haut était la méthode des éprouvettes de Hayem. Toutefois ne voulant pas borner nos recherches à la seule mesure de la vitesse de coagulation, nous avons eu recours à la technique, un peu compliquée certes, mais absolument précise, de Marcel Bloch pour l'examen de la force de coagulation.

Notre but fut de rechercher l'action exercée sur ces deux phénomènes par les extraits hypophysaires totaux. Les opinions des auteurs étaient en effet nettement contradictoires à ce sujet. Weil et Boyer trouvaient que l'extrait total agit de façon constante en accélérant le processus de la coagulation. Stoudinsky, au contraire, prétend que cette action favorisante, si elle se produit quelquefois, n'est pas du tout spécifique. Mieux encore, certains ont affirmé que l'extrait total agissait comme l'extrait de lobe antérieur, c'est-à-dire en retardant le phénomène de la coagulation.

Avant de contrôler ces faits contradictoires, un premier point s'imposait à notre esprit ; c'était de déterminer, au moyen des méthodes que nous avons choisies, la vitesse et la force de coagulation chez le chien normal, afin d'avoir pour nos expériences suivantes des termes de comparaison bien définis. Nous avons ainsi établi que le temps de coagulation chez le chien normal, le sang étant recueilli dans des éprouvettes à fond plat de 8 $\frac{m}{n}$ de diamètre, était en moyenne de 3 minutes 30 secondes. Quant à la force de coagulation déterminée par la méthode de Marcel Bloch, nous avons vu que ses limites étaient : indice 4 pour le seuil de la coagulation et indice 1,33 pour la coagulation complète.

Puis nous avons pratiqué des injections sous-cutanées d'extraits hypophysaires totaux. L'action sur la vitesse de coagulation fut très nette dans tous les cas. Et d'une façon constante nous avons pu constater une diminution fort appréciable du temps de coagulation. En somme l'extrait total a toujours eu les mêmes propriétés que celles qui sont admises par les auteurs pour les extraits de lobe postérieur. L'action favorisante de l'hypophysine commence à se manifester 1 h. 1/2 environ après l'injection. A ce moment on constate que dans les éprouvettes le sang coagule en 2 minutes 20 sec. en moyenne.

De façon générale 3 heures après l'injection toute action a cessé de se manifester et le temps de coagulation est redevenu ce qu'il était avant l'expérience. L'influence sur la force de coagulation est tout aussi évidente et nous avons vu combien le « seuil » était considérablement avancé : 1 h. 1/2 environ après l'injection d'hypophysine. De même ici encore toute action adjuvante semble avoir disparu 3 à 4 heures après le début de l'expérience. Les indices qui étaient venus un moment se cantonner aux limites 40 et 4 sont redevenus normaux, le seuil a de nouveau pour indice 4 et la coagulation complète 1,33.

Enfin nous avons vu comment pouvaient agir ces extraits hypophysaires. Ils amènent avec eux des substances hormonigènes facilement transformables en hormones par la glande homologue, ils excitent en outre la puissance fonctionnelle de cette glande endocrine. De nouveaux produits sont donc déversés dans le sang qui peuvent, dans une certaine mesure, être le point de départ des variations qu'on peut observer plus tard dans le processus de sa coagulation.

Signé : Jean RIOU.

Vu : le Professeur,
F. MEIGNON.

Vu : le Président,
M. RATHERY.

Pour le Doyen :
L'assesseur,
BALTHAZAR.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
LAPIE.

BIBLIOGRAPHIE

- NOLF. — Contribution à l'étude de la coagulation du sang. Mémoires 3, 4, 5. *Archives Internationales de Physiologie*, 1908, t. VI, p. 1-71, 115-191, 306-359.
- Etienne BRISSAUD. — La coagulabilité du sang mesurée dans le plasma sanguin (*Thèse*, Paris, 1911).
- Marcel BLOCH. — La coagulabilité sanguine. Mesure chimique (*Thèse*, Paris 1913-14).
- F. CZUBALSKI. — Les modifications de la coagulation du sang pendant la digestion. *C. R. Soc. Biologie*, Juin 1923, p. 301.
- Ch. RICHET. — Dictionnaire de physiologie. Coagulation du sang.
- Roger DOURIS. — Guide pratique pour l'analyse du sang. Paris, 1925, Vigot.
- J. JOLY. — Traité technique d'hématologie. Paris, 1923.
- ARTHUS. — Eléments de physiologie, 2^e édition, 1905.
— Eléments de chimie physiologique, 4^e édition.
- CARNOT. — Les idées nouvelles sur la coagulation. *Paris Médical*, 28 sept. 1912.
- DUKE. — A simple instrument for determining coagulation time of the blood. *Archives of International medicine*, février 1912.
- LAULANÉ. — De la coagulation du sang. Eléments de physiologie, 1^{re} édition, 1902.
- LUMIÈRE et COUTURIER. — Action anticoagulante des sels de zinc. *Ac. des Sciences*, 4 mai 1925.

- ROSENTHAL et BACHR. — Raccourcissement paradoxal du temps de la coagulation sanguine après injection intraveineuse de citrate de soude. *Arch. of International medecine*, Chicago, t. XXXIII, n° 5, 15 mai 1924.
- SABATTANI. — Le calcium « ion » dans la coagulation du sang. *Soc. Biol.*, 14 mai 1902.
- Mécanisme du rôle anticoagulant du citrate de soude. *Soc. Biol.*, 14 mai 1902.
- VIERORDT. — Die gerinnerung des Blutes. *Arch. f. Heilk.*, 1878.
- P. MORAWITZ. — Die Blutgerinnung. Abderhalden Handbuch des biochemischen Arbeitsmethoden.
- PUGLIESE. — Contribution à l'étude des substances anticoagulantes du sang. *Journ. de physio. et de patho. générales*, 1905, t. VII, p. 437-446.
- RETTGER. — The coagulation of blood. *American Journ. of physio.*, 1909, t. XXXVIII, p. 441-452.
- MELLAMBY. — The coagulation of blood. *Am. Journ. of physio.*, 1909, t. XXIV, p. 406-435.
- P. E. WEIL. — La coagulation du sang dans les états hémorragiques. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXI, p. 588.
- MORAWITZ. — Ergebnisse der physiol., 1905, t. IV, p. 307-422.
- ARTHUS. — La coagulation du sang. *Collection Scientia*, Paris.
- PERRIN et HANNS. — Méthode pratique d'appréciation de la coagulation du sang. Réunion de biol. Nancy, 28 nov. 1922.
- BORDET et DELANGE. — La coagulation du sang et la genèse de la thrombine. *Ann. Inst. Pasteur* 1912, t. XXVI, p. 657-674 et 737-766.
- MORAWITZ. — Zur frage der Blutgerinnung. *Bioch. Zeits.*, 1909, t. XVIII, p. 30-33.
- M. DELESENNE. — Action du sérum d'anguille et des extraits d'organe sur la coagulation. *Arch. de Physio.*, 1897, t. IX-XXIX, p. 646-660.

- Recherches sur la coagulation du sang chez les oiseaux, 1^{er} mémoire. *Arch. de Physio*, 1897, t. IX-XXIX, p. 333-346, 347-357.
- PERRIN, HANNS, STEFANOVITCH. — Recherches chimiques sur le rôle antihémorragique de l'extrait d'hypophyse. *Paris médical*, 1923, p. 229.
- N. DOYON et J. VIAL. — Substance anticoagulante d'origine tissulaire. Activité remarquable et origine nucléaire de cette substance. *Bulletin Soc. Biol.*, 10 déc. 1920, t. XCI, n° 36, p. 1396.
- H. MOLITOR et PICK. Contribution à l'action de la pituitrine dans la diurèse. *Archives path. méd. et pharmaco*, fasc. 3-4, Mars 1924.
- E. WEIL et G. BOYER. — Action différente des lobes hypophysaires sur la coagulation du sang chez l'homme et le lapin. *C. R. Soc. Biol.* 1909, t. LXVII, p. 428-430.
- Ch. LIVON. — Action différente des lobes hypophysaires sur le sang du chien. *C. R. Soc. Biol.* 1909, p. 618-619.
- Jean LA BARRE. — A propos de l'action antagoniste des extraits des lobes antérieurs et postérieurs d'hypophyse sur la coagulation du sang. *C. R. Soc. Biol.* 1924, t. XCI, p. 601-604.
- J. STODINSKY. — Sur l'action physiologique des extraits de l'hypophyse cérébrale. *Journal de physio et de patho génér.*, 1911, t. XIII, p. 1020.
- B. A. HOUSSAY et P. NAZZOCCO. — Composition de l'urine et du sang des chiens privés d'hypophyse. *C. R. Soc. Biol.* 1922, p. 409.
- A. CELESTINO DA COSTA. — Sur le rôle du lobe postérieur d'hypophyse dans la fonction glandulaire de l'hypophyse. *C. R. Soc. Biol.* 1923, p. 823.
- L. HALLIOU. — Sur l'action hypotensive des extraits hypophysaires. *C. R. Soc. Biol.* 1914, t. LXXVI, p. 581.

- FESSLY. — Etude sur l'action des extraits d'hypophyse sur la coagulation sanguine. *Paris Médical*, 18 nov. 1922, p. 997.
- HANNS, STEFANOVITCH, ARNOLGENTCH. — A propos de l'action coagulatrice de l'extrait d'hypophyse. *Paris Médical* 31 mars 1923.
- GUTMANN. — Sur les altérations du sang des animaux intoxiqués par les extraits d'organe. *C. R. Soc. Biol.* 1914, p. 349.
- HERRY. — Actions coagulantes sur le sang des hémophiles. *C. R. Soc. Biol.* 1910, t. LXVIII, p. 537.
- J. FROMENT. — Rapport sur les syndromes hypophysaires. 3^e réunion neurologique intern. de la Société de neurologie de Paris, juin 1922, n° 8, p. 323.
- LEDoux. — Recherches comparatives sur les substances qui suspendent la coagulation du sang. *Arch. de Biol.*, t. XIV, 1896, p. 1-41.
- NEIL et P. EMILE. — Le temps de saignement expérimental. *C. R. Soc. Biol.*, 1913, t. LXXIV, p. 590-592.
- J. BORDET. — Considérations sur les théories de la coagulation du sang. *Annales Inst. Pasteur* 1920, t. XXXIV, p. 561-595.
- NEWTON RUGELMAS. — Contribution physico-chimique au mécanisme de la coagulation du sang. *Arch. Int. de Physio*, t. XXI, 1923, p. 139-190.
-

TABLE DES MATIÈRES

	PAGES
Introduction.	9
Causes et résultats de la coagulation.....	12
Mécanisme de la coagulation.....	15
Actions favorisantes et empêchantes.....	17
Causes biologiques.	19
Procédés de mesures.....	27
De l'influence de l'hypophyse sur la coagulation.....	35
Vitesse de la coagulation chez le chien normal.....	39
Vitesse de coagulation après injection d'hypophysine..	50
La force de coagulation après l'injection d'hypophysine	56
Des suites immédiates de l'injection.....	60
Mode d'action des extraits.....	61
Conclusions.	64
Bibliographie.	67

